

ホタテガイ人工採苗試験

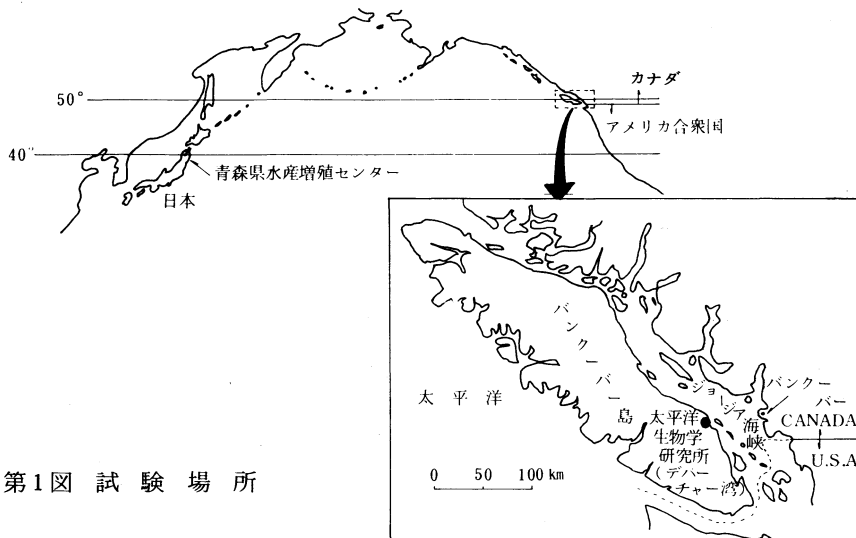
宝多 森夫^{*}・Cathy Manson^{*}・Karina Cooke^{*}・
 Rod Carmichael^{*}・Neil Bourne^{*}・須川 人志^{**}
 川村 要^{**}

青森県におけるホタテガイ人工種苗生産事業は、飛躍的に成績が向上した天然採苗にその地位をあけわたして久しいが、本年度はカナダ国ブリティッシュ・コロムビア州の太平洋生物学研究所において本種の人工採苗試験を実施する機会を得た。目的は陸奥湾のホタテガイ (*Patinopecten yessoensis* =以後ホタテガイとする) を用いて、当センターのホタテガイ人工採苗方法を紹介することにより、カナダ政府が現在進めているカナダのホタテガイ (*P.caurinus* =以後ウェダーヴェインとする) の人工種苗生産計画に協力することであった。試験は、著者の1人宝多森夫が昭和58年2月から7月まで、太平洋生物学研究所に滞在して、同研究所の担当職員と協同して実施したが、その結果は遺憾ながら受精時に起った障害により種苗を得るには至らなかった。ここにその概要を記し今後の問題解決への足がかりとしたい。

試験方法

試験場所

カナダ国立太平洋生物学研究所ホタテガイ実験室
 (カナダ国ブリティッシュ・コロムビア州ナナイモ市のデパーチャー湾に所在 第1図)



第1図 試験場所

＊ カナダ太平洋生物学研究所における実験に参加
 ＊＊ 当センターにおける実験に参加

試験年月日

昭和58年2月23日～7月8日

供試母貝

昭和56年陸奥湾産垂下養殖ホタテガイ175個

2月23日輸送	N=55	G.I. =22.2%		
2月28日輸送	N=50	G.I. =26.6%	S.L. =10.5cm	T.W. =144.3 g
3月7日輸送	N=50	G.I. =22.7%	S.L. =10.5cm	T.W. =145.1 g
3月14日輸送	N=20	G.I. =17.1%	S.L. = 9.4cm	T.W. =105.7 g

母貝の輸送

母貝は海水を含んだスポンジおよび凍結した氷まくら（商品名アイスノン・ソフト）と共に、発泡スチロール箱（約45×35×25cm）に収容し、当センター→三沢空港→東京国際空港→新東京国際空港→バンクーバー国際空港→ナナイモ空港→太平洋生物学研究所を自動車と飛行機を乗り継いで輸送する。

母貝の管理

原則として天然においてほぼ完熟状態に達したと思われる母貝を使用し、試験前の母貝の管理は特に行なわないが、試験の間は放精放卵を抑制するため母貝は室内水槽に収容し、5℃に調整した海水をかけ流す。

産卵誘発および受精

産卵誘発は、

- ① 水温の変化（5～15℃を反復）
- ② 水流の変化（流水と止水を反復）
- ③ 水質の変化（雄の生殖巣内容物を海水に溶解、海水に紫外線を照射）

による刺激を併用して行ない、得られた卵と精子は13～15℃の海水中ですみやかに受精させる。受精卵は40分毎に4回傾瀉法により卵洗浄し、その後の発生および孵化を待つ。

浮游幼生の飼育

孵化後2回の水交換を経た幼生はD型幼生の段階で室内約0.2トンFRP水槽に1個/mlの密度で収容し止水飼育する。飼育水の交換は水質や幼生の健康状態に応じて1/6～全換水する。餌料は室内で培養したモノクライシス (*Monochrysis (Pavlova) lutheri*) および *Nannochloris oculata* を14μmのフィルターで濾過し、原則的に1日1回幼生の成長および摂餌状況に応じて投与する。幼生の付着直前（眼点出現が目安）に人工産卵藻（商品名きんらん）を採苗器として水槽内に垂下する。飼育中は全期間軽い通気を行ない、水槽の上面は黒色スチロール板で被う。

試験結果

母貝の輸送

所要時間（ホタテガイの空中露出時間）は26～29時間であり、到着時の発泡スチロール内気温は氷まくら1個で10～13℃、氷まくら4個で1～6℃であった。前者の場合ホタテガイは2個が斃死寸前であり、後者の場合は氷まくらに接した2～13個のホタテガイが斃死または斃死寸前の状態であった。

母貝の管理

2月23日到着のホタテガイは2月25日の朝までに全滅した。流水による母貝の管理をカナダ政府が許可しなかった（防疫のため）ことと、研究所の冷海水装置が故障して使用不能となったことが原因であった。2月24日の産卵誘発で一斉に反応した雄が母貝管理水槽に移しても放精を止めなかったために水質が著しく悪化した。

2月28日到着分以降は流水による母貝の管理（毎分約8ℓ未満の流量と排水の塩素殺菌および淡水殺菌が条件）が許可され、また冷海水も普通海水との混合のため温度が安定しないまでも1～6℃の間で推移した。

3月14日到着分についてはG.I.がすでに低下しており、生殖巣が比較的肥厚していた20個体のみを母貝管理水槽に収容したが、これらはその後の産卵誘発には反応しなかった。

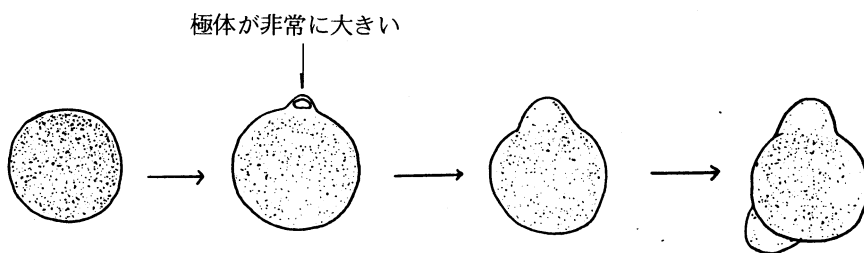
産卵誘発および受精

2月23日から6月30日までの計47回の産卵誘発に雄が21回、雌が12回反応した（第1表）。盛期は雄が3月および4月、雌が3月であった。

受精率は日を追って良くなったが、80%以下であった。しかもそれらの受精卵はいずれも異常であり（第2図）、トロコフォア幼生まで発生が進んだのは3月15日、3月23日、4月7日、4月19日、6月15日および6月30日の6回、またD型幼生まで発生が進んだのは3月15日、4月19日、6月15日および6月30日の4回の産卵誘発から各々僅少数にすぎなかった。

第1表 ホタテガイの産卵誘発および受精の状況

月 日	反 応		受精率	幼 生 数	月 日	反 応		受精率	幼 生 数				
	雄	雌				雄	雌						
2/23	×	×	0%		4/25	○	△						
24	○	○			26	×	×						
3/1	△	△	<10% <10% <20% <10% <20% <20% 0% <20% D型幼生8万個 トロコフォア幼生 僅少数 <20%		5/2	○	×						
2	○	○			3	×	×						
3	○	○			4	×	×						
7	×	×			5	○	×						
8	○	○			9	○	×						
11	○	切開 NaOH			10	×	×						
14	切開	切開 NaOH			11	×	×						
15	切開	○			12	×	×						
22	○	○			13	×	×						
23	切開	○			16	×	×						
28	×	×			25	○	×						
29	○	×			30	×	△						
30	○	○			31	○	×						
4/5	×	×			<20% トロコフォア幼生 僅少数 D型幼生10万個		6/1			○	×	70% 80%	D型幼生5万個 D型幼生5万個
6	○	×					8			×	×		
7	○	○	9	×			×						
11	○	×	14	△			×						
12	○	△	15	切開			○						
13	○	×	28	×			×						
14	×	×	29	×			△						
18	○	×	30	切開			○						
19	切開	○											



第2図 初期発生の異常（一例）

浮游幼生の飼育

前述の4回の例でもD型幼生の出現率は受精卵の約0.5~3%にすぎなかった。しかもそれらの約60~70%は貝殻が外見上何らかの奇形であった（写真1および写真2）。

また奇形のトロコフォア（D型幼生に変態しないものが受精卵の約0.5~10%出現した）とD型幼生は共に浮上しているため、これらを分離することは不可能であり、双方をあわせて1個/mlの密度で飼育に供した。

奇形のトロコフォア幼生は数日乃至2週間で沈降、斃死した。D型幼生は外見上正常な貝殻を有する個体を中心に順調に成長したが、いずれの場合も約160~180μの大きさでほぼ成長が止まり（第3図および第4図）、漸次斃死した。

付着稚貝は、3月15日受精分を、5月3日に生存率が著しく低下し、しかも依然生長がみられないため、飼育を断念すべく水槽を洗浄した際に確認した斃死個体3個（うち1個体は写真3）および生貝1個（約500μ 写真4）のみである。

なお浮游幼生飼育中の水温は12.8~19.0℃塩分濃度は27.0~29.5%の間で変化した（デパーチャー湾の水温および塩分濃度の周年変化を第5図に示した）。



写真1 片側の貝殻が小さく貝殻がいびつな個体



写真2 片側の貝殻が小さい個体

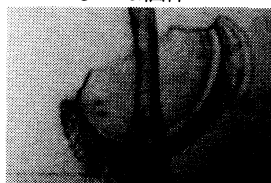


写真3 付着後斃死した個体

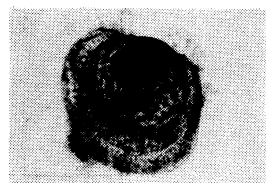
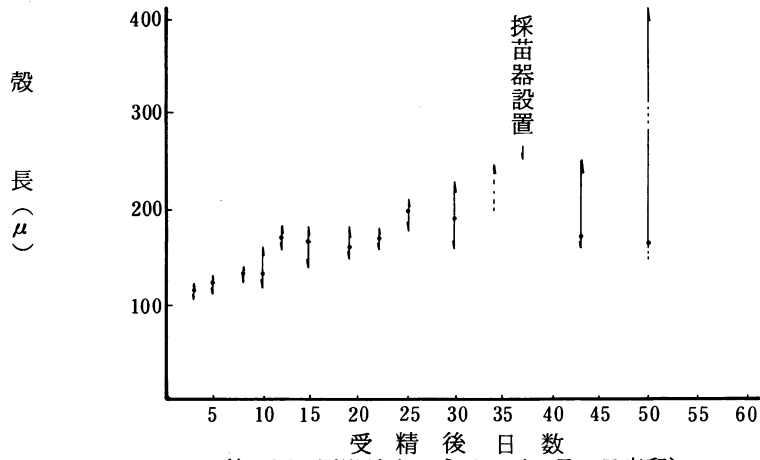
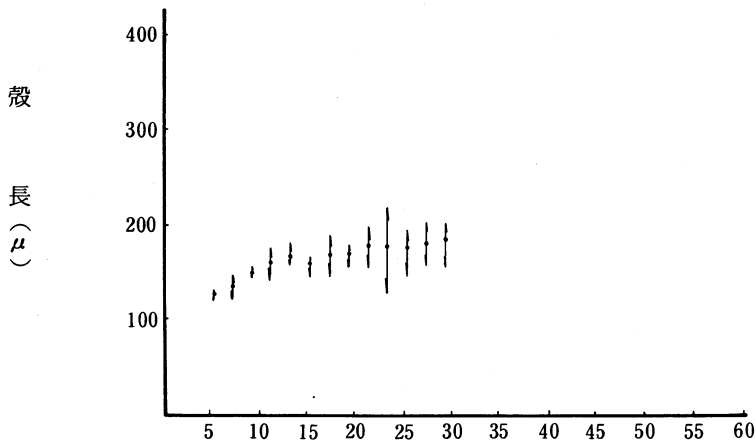


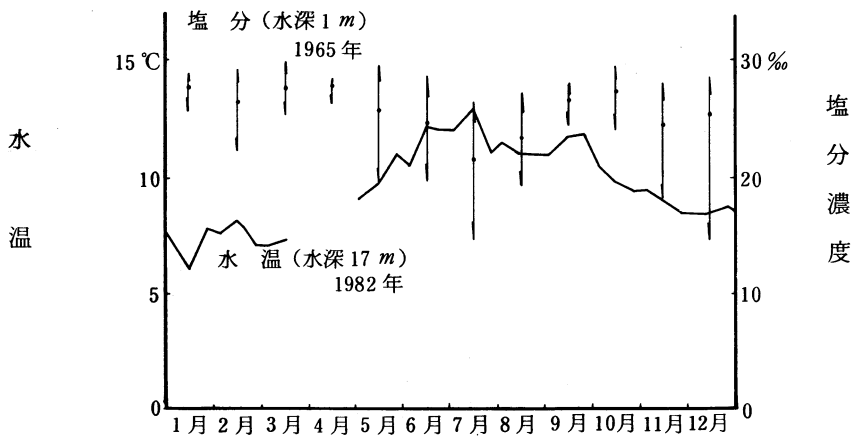
写真4 付着稚貝



第3図 浮游幼生の成長 I (3月15日産卵)



第4図 浮游幼生の成長 II (4月19日産卵)



第5図 太平洋生物研究所前の水温および塩分濃度の周年変化

受精時に起った障害について

本試験では浮游幼生が殻長160~180 μ で成長が止まることについて、幼生の飼育方法に問題があるのではないかの議論もしばしばかわされたが、筆者らは本試験でホタテガイ人工種苗が得られなかった最大の理由は卵と精子が正常な受精をしなかったことであると考えられる。

受精時に起った障害についてその原因を究明すべく、カナダ太平洋生物研究所と当センターの両方で若干の実験等を行なった。

① 3月2日(カナダ)

大規模な放精放卵にもかかわらず、受精率がほぼ0%であった。精子が放精後すぐに斃死してしまうことが判明した。

原因として、

- 1 母貝が未熟である(完熟していない)
- 2 母貝が不健康である
- 3 デパーチャー湾の水質に問題がある

の3つが考えられた。

そこで、

1については母貝管理で完熟するのを待つか、次のホタテガイの到着に期待する。

2については、現状ではホタテガイ輸送方法に改善の余地はないとのことなので、母貝管理で健康の回復を待つしかない。

3については、陸奥湾とどこが違うかを調べる。

ということで各々検討することになった。

② 3月3日(カナダ)

デパーチャー湾(研究所の取水口は水深17m)の塩分濃度が陸奥湾の32~35%に比して著しく低く28%であることが判明した。

そこで精子の耐塩性を調べた。人工海水で30%、31%、32%、33%に調整した10 ℓ 水槽(水温15 $^{\circ}$ C)に放精が始まったホタテガイを各々収容し、引続き放精させ、一定時間毎の精子の生残率を調べた。コントロールとして28%の水槽を設け、またウェダーヴェインの精子も調べた。

結果はホタテガイの精子がどの塩分濃度においても10分以内にほぼ全滅したのに対し、ウェダーヴェインの精子は28%では正常であるように思われた(第2表)。

第2表 精子の耐塩性 (I)

種類	ホ タ テ ガ イ		ウエダーヴェイン
放精後の 経過時間 塩分濃度	33%	28%	28%
30 秒 後	50%活性	70%	80%
1 分 後	20%	50%	80%
1.5 分 後	20%	35%	80%
2 分 後	10%	10%	80%
3 分 後	> 5 %	> 5 %	65%
5 分 後	1%	0.67%	65%
7.5 分 後	0.5%	1%	50~60%
10 分 後	0%	> 0.1%	20~30%

ウエダーヴェインについては水槽の余裕がなく、ホタテガイの28%水槽に収容したため斃死した精子の多くは、ホタテガイのものと思われた。

③ 3月8日 (カナダ)

ホタテガイの精子は28%の海水中で活発な運動がみられたが、受精率は非常に低く受精卵は全て奇形であった。

受精時の異常は卵に問題があるからではないかという意見が出されたが、当日の卵は全て球形であり、径80~85×75~80μと外見上の異常は全くみうけられなかった。

④ 3月11日、3月14日 (カナダ)

受精時の異常は卵に原因がある(卵膜が固いという意見が多かった)という仮説のもとに、薬品処理で卵膜をとり除いて受精を試みた。

方法は、

1. 0.1N-NH₄ OH 3%溶液を2ℓビーカーに作成
2. 卵をビーカー内に抽出
3. 抽出後5分、10分および15分後に各々洗卵し、海水を満したビーカーにもどす
4. 精子添加

というものであったが、

結果は以上の処理によって卵は卵膜が崩壊して球形とはなったものの、受精率はやはり非常に低く受精卵は全て奇形であった。

⑤ 3月15日 (カナダ)

受精率は、20%未満と低く、今回も受精卵は全て奇形であると思われたが、受精約30時間後に約3%が孵上(トロコフォア幼生)し、約45時間後に約2%(約8万個)のD型幼生を得た(水温15℃、塩分濃度29%)。しかしD型幼生の約60%は貝殻奇形であった。

以後6回の受精のうち5回までトロコフォア幼生、また3回においてD型幼生がほぼ同程度の量で出現することになる。

⑥ 3月17日(日本)

塩分濃度31.935%、30.144%および27.740%に調整(蒸留水を添加)した海水(16℃)を用いてホタテガイ精子の耐塩性を調べた。コントロールは33.295%(当日の天然海水)であった。

結果はホタテガイの精子はどの塩分濃度においても3時間以内は活発に運動した(第3表)。

第3表 精子の耐塩性(Ⅱ)

塩分濃度 放精時の 経過時間	33.295%	31.935%	30.144%	27.740%
10分後	活発に動く	活発に動く	活発に動く	活発に動く
30分後	活発に動く	活発に動く	活発に動く	活発に動く
1時間後	活発に動く	活発に動く	活発に動く	活発に動く
2時間後	活発に動く	活発に動く	活発に動く	活発に動く
3時間後	活発に動く	活発に動く	活発に動く	活発に動く

⑦ 3月17日~3月29日(日本)

- 受精以後33.295%の塩分濃度(当日の天然海水)で飼育した幼生を孵化直前に33.295%(コントロール)、30.093%、26.892%、23.690%および20.489%に調整した海水中に約2個/mlの密度で収容し、引き続き無投餌で飼育を継続した。なお、受精時の奇形はほとんどなく、受精率は80%以上であった。

結果は33.295%、30.093%および26.892%ではD型幼生に変態したが、23.690%および20.489%ではトロコフォア幼生から変態が進まぬまま、各々5日後および4日後に斃死した(第4表)。

第4表 絨毛幼生の耐塩性

塩分濃度 経過時間	33.295%	30.093%	26.892%	23.690%	20.489%
10分後	絨毛運動活発	絨毛運動活発	絨毛運動活発	絨毛運動活発	絨毛運動活発
16時間後 (翌朝)	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生
1日後	D型幼生	D型幼生	D型幼生	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生
2日後	D型幼生	D型幼生	D型幼生	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生
3日後	D型幼生	D型幼生	D型幼生	トロコフォア 幼生	トロコフォア 幼生
4日後	D型幼生	D型幼生	D型幼生	トロコフォア 幼生	斃死
5日後	D型幼生	D型幼生	D型幼生	斃死	

2. 受精後6日間を塩分濃度33.170~34.596% (天然海水)、水温16.2~17.6℃の海水で飼育した平均殻長125μのD型幼生を塩分濃度33.170% (コントロール)、29.980%、26.791%および20.412%に調整した海水中に収容し、引き続き5日間無投餌飼育した。

結果は20.412%を除き正常と思われた(第5表)。

第5表 D型幼生の耐塩性

塩分濃度 経過時間	33.170%	29.980%	26.791%	23.601%	20.412%
30分後	活発に動く(浮上している)	活発に動く(浮上している)	活発に動く(浮上している)	活発に動く(浮上している)	活発に動く(底に沈む)
1日後	〃	〃	〃	〃	〃 (浮上:沈降=3:7)
2日後	〃	〃	〃	〃	〃 (浮上:沈降=2:8)
3日後	〃	〃	〃	〃	〃 (浮上:沈降=2:8)
4日後	〃	〃	〃	〃	〃 (浮上:沈降=1:9)
5日後	〃	〃	〃	〃	〃 (浮上:沈降=2:8)

3. 塩分濃度31.324% (当日の天然海水) で得た受精卵を、5分後に31.324% (コントロール)、30.493%、27.166%、23.800%および20.489%に調整した海水中に収容し、引き続き3日間飼育した。飼育水温は17.2~18.0℃、受精率は90%以上であった。

結果は31.324%のみがD型幼生まで変態した(第6表)。

第6表 受精直後(未分割卵)の耐塩性

塩分濃度 サンプリング位置 経過時間	31.324%	30.493%	27.166%	23.800%	20.489%				
1日後	表層								
	底	順調にトロコフォア幼生に変態	トロコフォア幼生が少数出現	トロコフォア幼生が僅少数出現	トロコフォア幼生が僅少数出現	受精はしたが分割過程で斃死			
2日後	表層	D型幼生、トロコフォア幼生	トロコフォア幼生が少数出現	ナ	シ	ナ	シ		
	底	D型幼生、トロコフォア幼生10%斃死	95%斃死	斃	死	斃	死	斃	死
3日後	表層	D型幼生	ナ	シ	ナ	シ	ナ	シ	
	底	D型幼生	斃	死	斃	死	斃	死	斃

以上①～⑦を総合すると、最初精子が不活性であった原因は水の側ではなく精子の側にあったというところである。したがって精子は以後回復にむかったように思われた。卵についても同様のことがいえよう。次に水質の中で塩分濃度の問題がクローズ・アップされた。つまり孵化直前の幼生およびD型幼生については、デパーチャー湾と同じ塩分濃度の海水中でも発生が進行する可能性が得られたが、それ以前の発生段階（それがどの発生段階からであるかについては今後究明する必要がある）では、より高い塩分濃度の海水を必要とすることがわかった。

デパーチャー湾でホタテガイ人工種苗を得るためには、今後の試験において耐塩性の低い発生の初期段階をいかに通過させるかについて検討すべきであろう（もっともこのことは塩分濃度原因説を大前提にした話であるが……）。いずれにしても日本において発生の各段階（受精以前も）における耐塩性を調べてみる必要がある。

(備 考)

ウエダーヴェインについて

*Patinopecten caurinus*は合衆国オレゴン州からカナダを経てアラスカ州の水深5～140mの砂および砂泥底に分布するホタテガイで、ウエダーヴェインと称されている。殻長20cmに達し、生態・形態ともホタテガイ (*P.yessoensis*)に酷似する(写真5)が、足が大きいのが特徴である(写真6)。

本試験と並行して本種についても4月11日～6月9日に人工採苗試験を行なったが、受精時にホタテガイと同様の障害がみられ、大きな問題を提起した。

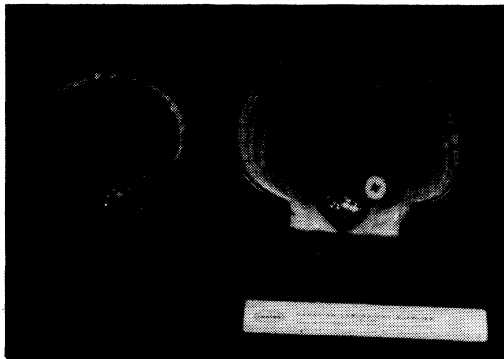


写真5 ウエダーヴェイン(右)
とホタテガイ(左)

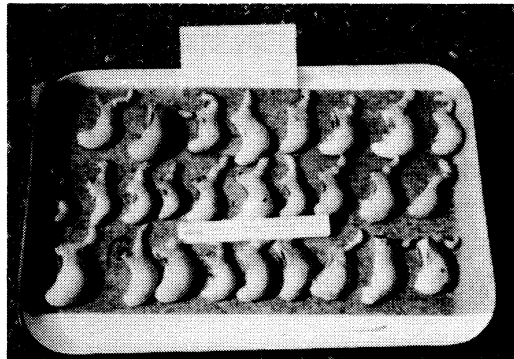


写真6 ウエダーヴェインの生殖巣
(2月18日)